

بررسی تغییرات حساسیت به انسولین در پی گنادکتومی یک طرفه، دو طرفه، تجویز استرادیول، پروژسترون و تستوسترون به همراه باز کننده یا مسدود کننده کانال های پتاسیم حساس به ATP در موش های صحرایی

**

*

†

چکیده:

زمینه و هدف: مطالعه اثرات هورمون های استروئید جنسی بر ترشح انسولین و حساسیت به انسولین از نظر بالینی در درمان بیماری های وابسته، دارای اهمیت است. بر این اساس، هدف اصلی پژوهش حاضر، بررسی اثرات این هورمون ها بر حساسیت به انسولین در موش ها می باشد. همچنین، با توجه به نقش کانال های حساس به ATP (K_{ATP}) سلول های بتای لوزالمعده در ترشح انسولین، اثرات هورمون های مذکور بر این کانال ها نیز بررسی شد. روش مطالعه: دیازوکساید یا وراپامیل به ترتیب با دوز روزانه ۳۰ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg به عنوان داروی باز کننده یا مسدود کننده کانال های K_{ATP} سلول های بتای لوزالمعده، مورد استفاده قرار گرفتند. هورمون تستوسترون با دوز روزانه ۵۰ mg/kg به عنوان دوز جایگزین در گروه بیضه برداری شده دو طرفه و ۱۰ mg/kg در موش های نر جراحی نشده و هورمون های پروژسترون و استرادیول به ترتیب با دوز روزانه ۲۰ mg/kg و ۲۰۰ μ g/kg در موش های ماده مورد مصرف واقع شدند. موش های نر به گروه های شاهد، بیضه برداری شده یک طرفه و دو طرفه، بیضه برداری شده دریافت کننده تستوسترون، گروه جراحی نشده دریافت کننده تستوسترون، دریافت کننده دیازوکساید یا وراپامیل و گروه های دریافت کننده تستوسترون + دیازوکساید یا وراپامیل تقسیم شدند. موش های ماده به گروه های شاهد، تخمدان برداری شده یک طرفه و دو طرفه، تخمدان برداری شده دریافت کننده پروژسترون یا استرادیول، گروه های جراحی نشده دریافت کننده پروژسترون، استرادیول، دیازوکساید یا وراپامیل و گروه های دریافت کننده پروژسترون+دیازوکساید یا وراپامیل تقسیم شدند. در هر گروه پس از چهار هفته، مقدار انسولین و گلوکز سرم خون اندازه گیری شد و حساسیت به انسولین (نسبت گلوکز به انسولین) بین گروه ها، مورد مقایسه آماری قرار گرفت.

نتایج: در موش های نر، بیضه برداری دو طرفه، تجویز دیازوکساید یا دیازوکساید + تستوسترون باعث افزایش، اما بیضه برداری یک طرفه، تجویز تستوسترون، وراپامیل یا تجویز وراپامیل+تستوسترون موجب کاهش حساسیت به انسولین شد. در موش های ماده، تخمدان برداری یک طرفه یا دو طرفه، تجویز پروژسترون، دیازوکساید یا پروژسترون+دیازوکساید یا وراپامیل باعث افزایش اما تجویز استرادیول یا وراپامیل سبب کاهش حساسیت به انسولین گردید.

نتیجه گیری: تستوسترون و استرادیول کاهنده حساسیت به انسولین بوده، اما تخمدان برداری، بیضه برداری دو طرفه و پروژسترون افزایش حساسیت به انسولین بودند. در این راستا، احتمالاً تستوسترون تأثیری بر باز و بسته شدن کانال های K_{ATP} سلول های بتای لوزالمعده نداشته، اما پروژسترون احتمالاً از طریق مهار کانال های K_{ATP} ، ترشح انسولین را تحت تأثیر خود قرار داده است.

واژه های کلیدی: بیضه برداری، تخمدان برداری، حساسیت به انسولین، دیازوکساید، کانال های K_{ATP} ، وراپامیل، هورمون های استروئید جنسی.

- استادیار گروه زیست شناسی - دانشگاه آزاد اسلامی تهران: واحد علوم تحقیقات- فلکه پونک- به طرف جاده خضارک
- تلفن: ۰۲۱-۴۰۹۳۶۳۱، (مؤلف مسئول).
- *** استاد گروه زیست شناسی - دانشگاه تربیت معلم تهران. ۱
- † استادیار گروه داخلی - دانشگاه آزاد اسلامی تهران.
- * استاد گروه فیزیولوژی - دانشگاه علوم پزشکی سملوایز مجارستان.

مقدمه:

هورمون های استروئید جنسی، اثرات مهمی بر هومئوستازی گلوکز و ترشح انسولین دارند. در واقع، اندیشه ارتباط میان هورمون های استروئید جنسی و انسولین، در پی گزارشی در خصوص وجود دیابت در زنان ریشدار، پدیدار گردید و تا این زمان بحث و بررسی در باره این موضوع ادامه یافت (۱). در این باره مقاومت به انسولین در پی تجویز استروئیدهای آنابولیک به زنان نیز گزارش شده است (۲۳). همچنین، نتایج برخی پژوهش ها بیانگر آن است که تجویز هورمون های جنسی مردانه می تواند باعث عدم تحمل گلوکز و افزایش انسولین در خون گردد (۳، ۳۷، ۴۰). یافته ها بر آنند که تستوسترون می تواند سبب مقاومت به انسولین در بافت ماهیچه گردد (۱۷، ۱۸). علاوه بر این، بررسی های اخیر، نشان می دهد که تستوسترون قادر به تحریک بیان ژنی انسولین نیز می باشد (۴۱). از سوی دیگر، استروژن ها و پروژستین ها هم می توانند ترشح انسولین از سلول های بتای لوزالمعده را تحت تأثیر خود قرار دهند (۸، ۱۹) و وجود گیرنده های ویژه استروژن و پروژسترون در جزایر لوزالمعده، خود گواه مهمی بر وجود اثرات این هورمون ها بر ترشح انسولین می باشد (۴۲).

در این میانه، احتمالاً استروژن باعث بهبود حساسیت به انسولین شده اما پروژسترون دارای اثری معکوس می باشد (۲۵). به کاربندی پروژسترون در محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - آدرنال نیز بر حساسیت به انسولین تأثیر دارد (۳۸). اخیراً، بررسی های انجام یافته در زنان مبتلا به سرطان سینه نیز نمایانگر اثرات استرادیول بر ترشح انسولین می باشد (۳۰). از سوی دیگر، باید دانست که کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای سلول های بتای لوزالمعده، مهم ترین واسطه اثر بسیاری مواد بر ترشح انسولین می باشند (۲۰). مسدود شدن این کانال ها سبب دیلاریزاسیون غشاء و ورود کلسیم از طریق

کانال های کلسیمی حساس به ولتاژ به درون سلول بتا می گردد که این امر به نوبه خود باعث ترشح انسولین می شود، حال آن که، باز کردن کانال های فوق الذکر، دارای اثری معکوس است (۱۹). از میان داروها و ترکیبات شیمیایی، دیازوکساید مهم ترین داروی بازکننده (۳۵) و وراپامیل مشهورترین ترکیب مسدود کننده (۴۳) کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای سلول های بتای لانگرهانس می باشد. با این همه، باید گفت اطلاعات در خصوص ارتباط دقیق میان هورمون های جنسی مردانه و یا زنانه با حساسیت به انسولین، محدود می باشد. مطالعات انجام یافته در باره ارتباط هورمون های جنسی مردانه و ترشح انسولین عمدتاً به بررسی مکانیسم های اثر انسولین بر پیدایش هیپراندروژنی پرداخته و بررسی های کمتری در زمینه اثرات هورمون های جنسی مردانه بر ترشح انسولین، انجام یافته است. از سوی دیگر، داده های ناهمگون در باره اثرات استروژن ها و نیز به ویژه پروژستین ها بر ترشح انسولین، گزارش شده اند، چنان که هم اینک نیز در باره مکانیسم اثر هورمون های جنسی زنانه بر ترشح انسولین، یافته های شفاف و واضح وجود ندارند. بر این پایه، پژوهش حاضر به بررسی اثرات هورمون های جنسی مردانه و زنانه بر ترشح انسولین پرداخته است. در این پژوهش اثرات بیضه برداری و تخمدان برداری یک طرفه و دو طرفه و تجویز هورمون تستوسترون (در موش های نر) و پروژسترون و استرادیول (در موش های ماده) بر حساسیت به انسولین مورد بررسی قرار گرفته و نیز تجویز توأم هورمون های تستوسترون یا پروژسترون به همراه دیازوکساید یا وراپامیل، به منظور بررسی تأثیر این هورمون ها بر کانال های پتاسیم حساس به ATP و متعاقباً ترشح انسولین، مورد مطالعه واقع شده است.

مواد و روشها:

الف) حیوانات:

موش های صحرایی نژاد ویستار (Wistar) با وزن 200 ± 30 گرم از انستیتو پاستور خریداری شدند. این موش ها، در دمای 23 ± 2 درجه سانتیگراد و دوره نوری- تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با در نظر گرفتن شروع دوره نوری از ساعت ۸ صبح نگهداری شده، همچنین بررسی های بالینی لازم به منظور جستجوی علائم آسیب شناسی، انجام پذیرفت. از سویی، ۱۲ تا ۱۴ ساعت قبل از انجام عمل جراحی یا خونگیری و مرگ، غذا از دسترس حیوانات خارج گردید.

ب) مواد:

تستوسترون انانات (T.enanthate)، استرادیول والرات (E.valerate)، پروژسترون، دیازوکساید و ورامپیل به صورت پودر خالص (به ترتیب به عنوان داروهای بازکننده و مسدود کننده کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای سلول های بتای لوزالمعده) از شرکت دارویی شیمیایی ابوریحان تهیه شد. جهت اندازه گیری انسولین، کیت مرسوم آزمایشگاهی سنجش RIA و به منظور اندازه گیری گلوکز خون، کیت آزمایشگاهی گلوکز اکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

ج) برنامه اجرایی و گروه بندی ها:

حیوانات تجربی به دو گروه اصلی نر و ماده تقسیم شده، هر گروه بر پایه به کارگیری نوع تجویز هورمون و یا دارو و نیز جراحی به زیر گروه های متعددی تقسیم گردید (جدول شماره های ۱ و ۲). حیوانات در هر زیر گروه، ۴ هفته پس از جراحی یا دریافت هورمون و یا دارو، مورد خونگیری قرار گرفتند. پس از خونگیری و تهیه سرم گلوکز خون ناشتا و نیز غلظت انسولین سرم

اندازه گیری شد و در نهایت نسبت گلوکز سرم به انسولین به عنوان شاخص حساسیت به انسولین محاسبه گردید. تزریق هورمون تستوسترون، استرادیول و پروژسترون از سومین روز پس از جراحی آغاز شد و ادامه یافت. دیازوکساید با غلظت آبی ۱ میلی گرم / ۱ میلی لیتر در محلول سود ۰/۱ مولار و ورامپیل نیز با غلظت مشابه تهیه شده و مورد استفاده قرار گرفت (۲۳، ۴۰).

د) جراحی:

گنادکتومی بر اساس روش های بیان شده توسط WayneForth انجام شد (۴۴). فشرده آنکه، به منظور جراحی، ابتدا حیوانات با استفاده از هیدروکلرید کتامین ($120-100$ mg/kg) و هیدروکلرید گزیلین (24 mg/kg) بیهوش می شدند. آن گاه، در تخمدان برداری، یک برش پوستی پشتی در حد ۱ تا ۲ سانتیمتر در حدود دنده سیزدهم ایجاد شده، متعاقباً پس از برش عضلانی در این ناحیه، تخمدان برداشته شد و در پی آن برش ها ترمیم گردیدند. در بیضه برداری، پس از ایجاد برش کوچک در میانه دیواره اسکروتوم و سپس در نوک کیسه عضلانی پوشاننده، بیضه برداشته شد، متعاقباً برش ها مورد ترمیم قرار گرفتند.

ه) تهیه سرم:

نمونه های خون از طریق تکنیک خونگیری از قلب (Cardiac puncture technique) (۴۱)، تهیه شده و سپس ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. به منظور تهیه سرم، نمونه های خونی در دور ۲۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شده و پس از تفکیک سرم، نمونه های سرم مورد نیاز جهت اندازه گیری انسولین، در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند (۲۶).

جدول شماره ۱: غلظت گلوکز و انسولین و نسبت گلوکز به انسولین در موش های صحرایی نر

گروه	شاخص	گلوکز (mg/dl)	P	انسولین (uu/ml)	P	نسبت گلوکز به انسولین	P
شاهد		۱۶۸/۴۳ ± ۴/۶۶		۱۵/۱۴ ± ۰/۸۷		۱۱/۲۶ ± ۰/۶۹	
Uni-orex		۱۵۶/۷۹ ± ۷/۵۶	<۰/۲	۱۷/۶۲ ± ۰/۶۲	<۰/۰۵	۸/۹ ± ۰/۳۹	<۰/۰۵
Bi-orex		۱۲۸/۳۶ ± ۵/۲۴	<۰/۰۰۱	۸/۵۸ ± ۰/۱۸	<۰/۰۰۱	۱۵/۷ ± ۲/۱۲	<۰/۰۵
Bi-orex-T		۱۵۲/۵ ± ۱۶/۳۸	<۰/۰۵	۱۷/۳۵ ± ۰/۸۹	<۰/۰۱	۸/۸۴ ± ۰/۶۸	<۰/۰۵
T		۱۸۷/۵۳ ± ۶/۹۷	<۰/۰۵	۲۱/۵۴ ± ۲/۰۸	<۰/۰۱	۸/۸۴ ± ۱/۳۴	<۰/۰۵
D		۱۵۲/۱۹ ± ۶/۲۲	<۰/۰۱	۱۰/۸۶ ± ۰/۷۲	<۰/۰۱	۱۴/۳۴ ± ۱/۰۳	<۰/۰۱
V		۱۹۳/۰۲ ± ۵/۵۸	<۰/۰۵	۲۰/۹۳ ± ۰/۴۴	<۰/۰۰۱	۹/۲۲ ± ۰/۳۳	<۰/۰۵
T+D		۱۳۵/۲۴ ± ۹/۸۳	<۰/۰۵	۹/۵۹ ± ۱/۲۶	<۰/۰۰۱	۱۴/۶۲ ± ۳/۱۹	<۰/۰۱
T+V		۱۹۵/۵ ± ۸/۹۵	<۰/۰۵	۲۱/۱۲ ± ۰/۲۶	<۰/۰۰۱	۹/۲۵ ± ۱/۸۴	<۰/۰۵

گروهها عبارتند از: شاهد، بیضه برداری شده یک طرفه (Uni-orex)، بیضه برداری شده دو طرفه (Bi-orex)، بیضه برداری شده دو طرفه دریافت کننده تستوسترون (50 mg/kg/day) (Bi-orex+T) و موش های جراحی نشده نر دریافت کننده تستوسترون (10 mg/kg/day) (T)، دریافت کننده دیازوکساید (30 mg/kg/day) (D)، دریافت کننده وراپامیل (100 mg/kg/day) (V)، دریافت کننده تستوسترون (10 mg/kg/day) + دیازوکساید (30 mg/kg/day) (T+D) و دریافت کننده تستوسترون (10 mg/kg/day) + وراپامیل (100 mg/kg/day) (T+V). داده ها به صورت میانگین \pm SEM حاصل از ۱۰ نمونه در هر گروه می باشند. مقادیر P (حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه) نسبت به گروه شاهد مقایسه و بیان شده اند.

نتایج:

الف) گروههای نر:

جدول شماره ۱ نشانگر غلظت گلوکز و انسولین خون و نیز نسبت گلوکز به انسولین به عنوان شاخص حساسیت به انسولین می باشد. هر گروه شامل ۱۰ نمونه حیوانی می باشد.

ب) اثرات بیضه برداری و جایگزینی تستوسترون بر حساسیت انسولین:

نتایج بیانگر آنند که غلظت گلوکز در موش های بیضه برداری شده یک طرفه دچار کاهش غیر معنی دار ($P < 0/2$) و در موش های بیضه برداری شده دو طرفه دچار کاهش معنی دار ($P < 0/001$) شده است. از سویی

و) سنجش های بیوشیمیایی:

گلوکز سرم بلافاصله پس از تهیه نمونه های سرم از طریق روش گلوکز اکسیداز اندازه گیری شد، از طرفی، غلظت انسولین سرم نیز با استفاده از روش سنجش رادیواکتیو (RIA) تعیین گردید.

ز) تجزیه و تحلیل آماری:

داده ها با استفاده از برنامه نرم افزاری SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل واقع شدند. در آنالیز واریانس، معنی داری اختلاف میان گروهها با استفاده از آزمون فیشر (Fishers LSD) تعیین گردید.

نر شده ($P < 0/05$)، اما تجویز دیازوکساید (30 mg/kg/day) باعث کاهش غلظت گلوکز گردید ($P < 0/01$). از طرفی، تجویز وراپامیل (100 mg/kg/day) در موش های جراحی نشده نر سبب افزایش میزان انسولین سرم شده (به ترتیب $P < 0/01$ و $P < 0/001$)، اما تجویز دیازوکساید منجر به کاهش میزان انسولین گردید ($P < 0/01$). حساسیت به انسولین در موش های نر جراحی نشده تیمار شده با تستوسترون و یا وراپامیل دچار کاهش شد ($P < 0/05$)، اما در موش های تیمار شده با دیازوکساید، افزایش یافت ($P < 0/01$). تجویز توأم دیازوکساید (30 mg/kg/day) و تستوسترون (10 mg/kg/day) منجر به کاهش غلظت گلوکز ($P < 0/05$) و انسولین سرم ($P < 0/001$) در مقایسه با گروه شاهد و گروه تیمار شده با دیازوکساید ($P < 0/01$) گردید. همچنین این تجویز موجب افزایش حساسیت به انسولین نسبت به گروه شاهد شد ($P < 0/01$)، در حالی که میزان انسولین و حساسیت به انسولین میان گروه های دریافت کننده دیازوکساید و دیازوکساید + تستوسترون تفاوت معنی داری را از خود نشان نداد. در موش های نر جراحی نشده دریافت کننده وراپامیل (100 mg/kg/day) + تستوسترون (10 mg/kg/day)، میزان انسولین و حساسیت به انسولین در مقایسه با گروه شاهد، کاهش یافت (به ترتیب $P < 0/01$ و $P < 0/05$)، حال آن که در مقایسه با گروه دریافت کننده وراپامیل، تغییر معنی داری مشاهده نگردید.

ه) گروه های ماده:

جدول شماره ۲ نمایشگر غلظت گلوکز و انسولین و نسبت گلوکز به انسولین در موش های ماده می باشد هر گروه شامل ۱۰ نمونه حیوانی می باشد

مقدار انسولین در موش های بیضه برداری شده یک طرفه نسبت به گروه شاهد افزایش یافته ($P < 0/05$) اما در موش های بیضه برداری شده دو طرفه، دچار کاهش گردید ($P < 0/001$). در مجموع، شاخص حساسیت به انسولین در موش های بیضه برداری شده یک طرفه نسبت به گروه شاهد کاهش معنی دار ($P < 0/05$) یافت. جایگزینی تستوسترون (50 mg/kg/day) در موش های بیضه برداری شده دو طرفه باعث کاهش گلوکز ($P < 0/05$) و افزایش انسولین ($P < 0/01$) نسبت به حیوانات گروه شاهد و گروه بیضه برداری شده دو طرفه گردید ($P < 0/05$). از طرفی جایگزینی تستوسترون در موش های بیضه برداری شده دو طرفه سبب کاهش معنی دار حساسیت به انسولین نسبت به گروه بیضه برداری شده دو طرفه سبب کاهش معنی دار حساسیت به انسولین نسبت به گروه بیضه برداری شده دو طرفه گردید ($P < 0/05$). در مجموع کاهش تستوسترون متعاقب بیضه برداری دو طرفه باعث افزایش حساسیت به انسولین شده و جایگزینی تستوسترون در موش های بیضه برداری شده دو طرفه و تجویز تستوسترون در موش های جراحی نشده، سبب کاهش حساسیت به انسولین گردید.

ج) اثرات تستوسترون بر حساسیت به انسولین در موش های نر جراحی نشده:

تجویز روزانه تستوسترون (10 mg/kg) در موش های جراحی نشده نر باعث افزایش معنی دار گلوکز ($P < 0/05$) و انسولین ($P < 0/01$) نسبت به گروه شاهد شده اما سبب کاهش حساسیت به انسولین گردید ($P < 0/05$).

د) اثرات دیازوکساید یا وراپامیل بر حساسیت به انسولین در موش های نر:

تجویز وراپامیل (100 mg/kg/day) موجب افزایش گلوکز سرم خون در موش های جراحی نشده

جدول شماره ۲: غلظت گلوکز و انسولین و نسبت گلوکز به انسولین در موش های صحرایی ماده

شاخص	گلوکز (mg/dl)	P	انسولین (uu/ml)	P	نسبت گلوکز به انسولین	P	گروه
شاهد	۱۵۷/۷۸ ± ۴/۷۲		۱۶/۹۴ ± ۰/۶۸		۹/۳۶ ± ۰/۴۶		
Uni-ovx	۱۳۹/۶۱ ± ۱۲/۷۹	<۰/۰۱	۱۲/۴۱ ± ۰/۸۷	<۰/۰۱	۱۱/۳۳ ± ۱/۱۲	<۰/۰۵	
Bi-ovx	۱۳۷/۳۲ ± ۵/۶۶	<۰/۰۱	۹/۶۲ ± ۰/۹۰	<۰/۰۰۱	۱۴/۷۶ ± ۱/۴۱	<۰/۰۱	
Bi-ovx-E	۱۶۶/۶۸ ± ۵/۷۷	**۰/۰۱	۲۰/۵۷ ± ۲/۳۳	**<۰/۰۱	۸/۵ ± ۱/۰۱	**<۰/۰۵	
Bi-ovx-P	۱۴۲/۳۹ ± ۴/۶۹	**NS	۷/۳۷ ± ۰/۹۳	**NS	۲۰/۳۸ ± ۲/۲۷	**<۰/۰۵	
E	۱۷۳/۹ ± ۷/۰۳	<۰/۰۵	۳۲/۳۸ ± ۰/۹۶	<۰/۰۰۱	۵/۳۵ ± ۰/۲۷	<۰/۰۵	
P	۱۵۲/۲۶ ± ۵/۷۲	NS	۷/۶۵ ± ۰/۶۷	<۰/۰۰۱	۱۸/۳۶ ± ۳/۴۷	<۰/۰۱	
D	۱۶۷/۳۲ ± ۳/۱۳	NS	۱۰/۶ ± ۰/۸۲	<۰/۰۰۱	۱۵/۹۵ ± ۰/۸۹	<۰/۰۱	
V	۱۸۷/۲۷ ± ۴/۶۷	<۰/۰۱	۲۰/۹۵ ± ۱/۰۳	<۰/۰۵	۸/۵۲ ± ۰/۴۲	NS	
P+D	۱۷۱/۷۶ ± ۳/۷۱	NS	۹/۶۳ ± ۰/۶۷	<۰/۰۰۱	۱۸/۰۶ ± ۱/۳۲	<۰/۰۰۱	
P+V	۱۶۶/۴۱ ± ۸/۸۵	NS	۹/۶۷ ± ۱/۰۷	<۰/۰۰۱	۱۸/۱۶ ± ۲/۳۲	<۰/۰۰۱	

گروهها عبارتند از: شاهد، تخمدان برداری شده یک طرفه (Uni-ovx)، تخمدان برداری شده دو طرفه دریافت کننده استرادیول (200 µg/kg/day) (Bi-ovx+E) و دریافت کننده پروژسترون (20 mg/kg/day) (Bi-ovx+P)، موش های جراحی نشده دریافت کننده استرادیول (200 µg/kg/day) (E)، دریافت کننده پروژسترون (20 mg/kg/day) (P)، دریافت کننده دیازوکساید (30 mg/kg/day) (D)، دریافت کننده وراپامیل (100 mg/kg/day) (V)، دریافت کننده پروژسترون (20 mg/kg/day) + دیازوکساید (30 mg/kg/day) (P+D) و دریافت کننده پروژسترون (20 mg/kg/day) + وراپامیل (100 mg/kg/day) (P+V). داده ها به صورت میانگین ± SEM حاصل از ۱۰ نمونه در هر گروه می باشند. مقادیر P (حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه) نسبت به گروه شاهد یا Bi-ovx مقایسه و بیان شده اند. علامت (**) نشان دهنده مقایسه با گروه Bi-ovx می باشد و NS نشانگر نبود اختلاف معنی داری نسبت به گروه شاهد است.

(و) اثرات تخمدان برداری و جایگزینی پروژسترون یا استرادیول بر حساسیت به انسولین:

غلظت گلوکز در موش های تخمدان برداری شده یک طرفه و دو طرفه، نسبت به گروه شاهد دچار کاهش گردید (<۰/۰۱) و کاهش انسولین متعاقب تخمدان برداری یک طرفه (<۰/۰۱) و تخمدان برداری دو طرفه (<۰/۰۰۱) مشاهده شد. از سویی افزایش حساسیت به انسولین در پی تخمدان برداری یک طرفه

(<۰/۰۵) و تخمدان برداری دو طرفه (<۰/۰۱) نسبت به گروه شاهد پدید آمد. در این راستا افزایش حساسیت به انسولین در موش های تخمدان برداری شده دو طرفه بیش از موش های تخمدان برداری شده یک طرفه بود. (<۰/۰۵) جایگزینی استرادیول (۲۰۰ µg/kg/day) در موش های تخمدان برداری شده دو طرفه میزان انسولین و گلوکز را نسبت به گروه تخمدان برداری شده دو طرفه افزایش داد (<۰/۰۱) اما موجب کاهش حساسیت به

انسولین گردید ($P < 0/05$) و جایگزینی پروژسترون (20 mg/kg/day) منجر به افزایش معنی دار حساسیت به انسولین در مقایسه با موش های تخمدان برداری شده دو طرفه، گردید ($P < 0/05$). بدین ترتیب و در مجموع، تخمدان برداری و جایگزینی پروژسترون در موش های تخمدان برداری شده سبب افزایش حساسیت به انسولین شده، اما جایگزینی استرادیول در موش های تخمدان برداری شده، موجب کاهش حساسیت به انسولین گردید.

ز) اثرات استرادیول پروژسترون همراه با دیازوکساید یا وراپامیل بر حساسیت به انسولین:

تجویز استرادیول ($200 \text{ } \mu\text{g/kg/day}$) در موش های ماده جراحی نشده باعث افزایش میزان گلوکز ($P < 0/05$) و انسولین ($P < 0/01$)، اما موجب کاهش حساسیت به انسولین ($P < 0/05$) نسبت به گروه شاهد گردید و تجویز پروژسترون (20 mg/kg/day) باعث کاهش غیر معنی دار گلوکز و کاهش معنی دار میزان انسولین ($P < 0/01$) و افزایش معنی دار حساسیت به انسولین ($P < 0/01$) گردید. از سوی دیگر، تجویز وراپامیل (100 mg/kg/day) در موش های ماده جراحی نشده، سبب افزایش میزان گلوکز ($P < 0/01$) و انسولین ($P < 0/05$) گردیده، اما بر حساسیت به انسولین تأثیر معنی داری نداشت. در موش های ماده جراحی نشده دریافت کننده وراپامیل (100 mg/kg/day) + پروژسترون (20 mg/kg/day)، غلظت گلوکز نسبت به حیوانات شاهد تغییر معنی داری نداشته، اما در مقایسه با گروه دریافت کننده وراپامیل، کاهش معنی داری پیدا کرد ($P < 0/05$). در مقایسه با گروه شاهد و گروه دریافت کننده وراپامیل، میزان انسولین در موش های دریافت کننده وراپامیل (100 mg/kg/day) + پروژسترون (20 mg/kg/day) دچار کاهش ($P < 0/01$) و حساسیت

به انسولین، دچار افزایش گردید ($P < 0/01$). تجویز دیازوکساید (30 mg/kg/day) و یا دیازوکساید (30 mg/kg/day) + پروژسترون (20 mg/kg/day) در موش های ماده جراحی نشده، بر غلظت گلوکز تأثیر معنی داری نداشته، اما سبب کاهش میزان انسولین ($P < 0/01$) در هر یک از این گروهها گردید. از طرفی میزان انسولین در گروههای دریافت کننده دیازوکساید (30 mg/kg/day) و دیازوکساید (30 mg/kg/day) + پروژسترون (20 mg/kg/day) در مقایسه با یکدیگر، تفاوت معنی داری نشان نداد. حساسیت به انسولین در گروه های دریافت کننده دیازوکساید (30 mg/kg/day) و دیازوکساید (30 mg/kg/day) + پروژسترون (20 mg/kg/day) دچار افزایش گردید (به ترتیب $P < 0/01$ و $P < 0/01$). بدین ترتیب، پروژسترون همراه با دیازوکساید یا وراپامیل در هر دو حالت حساسیت به انسولین را در موش های ماده افزایش داد. از سویی، مقایسه حساسیت به انسولین بین گروه های دریافت کننده پروژسترون + دیازوکساید و دریافت کننده پروژسترون + وراپامیل نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی داری میان این گروهها بود.

بحث:

الف) اثرات بیضه برداری و تجویز تستوسترون بر حساسیت به انسولین:

مطابق مطالعه حاضر، تستوسترون کاهنده حساسیت به انسولین بوده، این یافته در مطالعات پیشین و اخیر نیز مشاهده شده است (۴۱، ۱۷، ۴). هر چند بر خلاف یافته فوق، Neilsen نشان داده است که در کشت بافت لوزالمعده، تستوسترون اثر معنی داری بر حساسیت به انسولین در سلول ها بر جای نمی گذارد (۳۲). در این پژوهش، بیضه برداری دو طرفه باعث افزایش، اما بیضه برداری یک طرفه موجب کاهش حساسیت به

انسولین گردید. از آنجا که جایگزینی تستوسترون اثر افزایشی بیضه برداری دو طرفه را جبران نمود، بنابراین، به نظر می آید علت افزایش حساسیت به انسولین در موش های بیضه برداری شده دو طرفه، مربوط به کاهش میزان تستوسترون متعاقب بیضه برداری می باشد. از نظر مکانیسم عمل، اثر کاهندگی تستوسترون بر حساسیت به انسولین اساساً وابسته به افزایش میزان انسولین می باشد که این امر، به نوبه خود، می تواند به دلایل زیر پدید آید:

- ۱- کاهش در میزان کلیرانس متابولیک انسولین (۲۸).
- ۲- آسیب ظرفیت کبدی در استخراج انسولین (۱۳).
- ۳- افزایش میزان ترشح انسولین (۳۶) از طریق اثر مستقیم تستوسترون بر غده لوزالمعده (۱۰).
- ۴- افزایش بیان ژنی انسولین (۴۱).

همچنین، تستوسترون می تواند به استروژن ها تبدیل گردد و بر این اساس می توان در نظر گرفت که حداقل بخشی از اثرات تستوسترون، حاصل از اثرات استروژن ها می باشد (۱۸). در موش های بیضه برداری شده دو طرفه، کاهش قابل توجه مقادیر تستوسترون، باعث کاهش بیان ژنی انسولین (۴۱) و غلظت انسولین می گردد. از سویی دیگر، جایگزینی تستوسترون در موش های بیضه برداری شده دو طرفه موجب افزونی میزان mRNA انسولین (۲۲) و غلظت انسولین سرم می شود که بدین واسطه حساسیت به انسولین را کم می نماید. در موش های بیضه برداری شده یک طرفه علیرغم انتظار افزایش حساسیت به انسولین احتمالاً به دلیل افزایش جبرانی عملکرد تک بیضه باقی مانده به منظور تولید بیشتر هورمون تستوسترون، حساسیت به انسولین دچار کاهش می گردد که این امر نیازمند مطالعات دقیق تری است. تجویز تستوسترون، علاوه بر افزایش میزان انسولین، همچنان که در پژوهش حاضر دیده می شود، باعث افزایش غلظت گلوکز نیز می گردد. در واقع، تستوسترون ورود گلوکز به عضله اسکلتی را کم می کند (۲) و ساختار رشته های عضله اسکلتی را به

گونه ای دچار تغییر می سازد که حساسیت کمتری نسبت به انسولین داشته باشند (۲۴) و بدین ترتیب، این امر در افزایش گلوکز خون تأثیر می گذارد. تجویز تستوسترون در موش های بیضه برداری شده دو طرفه گرچه باعث افزایش غلظت گلوکز می گردد، اما به دلیل افزایش میزان انسولین، نسبت گلوکز به انسولین (حساسیت به انسولین) در این گروهها نه تنها دچار افزایش نشده، بلکه کاهش نیز می یابد.

ب) اثرات تستوسترون بر کانال های پتاسیم حساس به ATP در موش های نر:

در این تحقیق، وراپامیل با دوز ۱۰۰ mg/kg/day به عنوان مسدود کننده و دیازوکساید با دوز روزانه ۳۰ mg/kg به عنوان باز کننده کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای سلول های بتای لوزالمعده، مورد استفاده قرار گرفتند (۳۹،۹). از سویی وراپامیل به عنوان داروی افزایش دهنده میزان انسولین و دیازوکساید به عنوان کاهنده میزان انسولین مورد مصرف واقع شدند. تحقیقات نشان داده اند دوزهای دارویی فوق الذکر بر کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای سلول های بتای لوزالمعده و ترشح انسولین مؤثر می باشند (۳۹،۳۵،۹). تجویز توأم تستوسترون با وراپامیل موجب کاهش و تجویز تستوسترون با دیازوکساید سبب افزایش حساسیت به انسولین در موش های نر گردید. البته، میزان انسولین و حساسیت به انسولین ما بین گروه های دریافت کننده وراپامیل و تستوسترون + وراپامیل و نیز گروه های دریافت کننده دیازوکساید و تستوسترون + دیازوکساید دارای اختلاف معنی داری نبود و این امر احتمالاً بیانگر آن است که تستوسترون بر مسدود شدن یا باز شدن کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای سلول های بتا و یا حداقل بر اثرات وراپامیل یا دیازوکساید بر ترشح انسولین و حساسیت به انسولین،

تأثیری ندارد. به هر تقدیر مطالعات بیشتری به منظور تعیین ارتباط دقیق میان تستوسترون و کانال های پتاسیم حساس به ATP در غشای سلول های بتای لوزالمعده به ویژه در سطح سلولی - مولکولی، مورد نیاز می باشد.

(ج) اثرات تخمدان برداری، استرادیول و پروژسترون بر حساسیت به انسولین در موش های ماده:

بر اساس یافته های این پژوهش، تخمدان برداری یک طرفه و دو طرفه منجر به کاهش میزان انسولین سرم و افزایش حساسیت به انسولین گردید. همچنین حساسیت به انسولین در موش های تخمدان برداری شده دو طرفه افزایش بیشتری نسبت به تخمدان برداری شده یک طرفه از خود نشان داد. به منظور جایگزینی دوز 20 mg/kg/day هورمون پروژسترون و دوز 200 µg/kg/day هورمون استرادیول در موش های تخمدان برداری شده دو طرفه مورد مصرف قرار گرفت. تحقیقات نشان داده اند که این دوزها بر ترشح انسولین و حساسیت به انسولین کاملاً مؤثر می باشند (۲۵، ۱۵، ۱۴). جایگزینی استرادیول در موش های تخمدان برداری دو طرفه و تجویز استرادیول در موش های ماده جراحی نشده، سبب کاهش حساسیت به انسولین و افزایش میزان انسولین گردید. در صورتی که جایگزینی و تجویز پروژسترون دارای اثرات معکوس بود. یافته های تحقیق حاضر، مؤید مطالعات پیشین و اخیر می باشد، چه در مردهایی که استروژن دریافت کرده اند کاهش حساسیت به انسولین نیز مشاهده شده است (۳۴)، همچنین اثرات تحریکی استرادیول بر ترشح انسولین در مطالعات کشت بافت گزارش گردیده (۱۲) و ارتباط میان ترشح انسولین و غلظت سرمی استرادیول در پژوهش های اخیر به اثبات رسیده است (۳۰). از سوی دیگر، طی سال های گذشته اطلاعات همگون در باره اثرات پروژسترون بر

حساسیت به انسولین گزارش شده اند. به عنوان مثال، تجویز پروژسترون در زنان یائسه باعث افزایش حساسیت به انسولین گردیده (۱۵) حال آنکه در میان مصرف کننده های پروژسترون خوراکی، افزایش یا کاهش معنی داری در حساسیت به انسولین مشاهده نشده است (۶). علاوه بر این تجویز پروژسترون باعث کاهش حساسیت به انسولین در بافت چربی (۷) و دیگر بافت ها (۱۱) گردیده است. اثرات استرادیول و پروژسترون بر ترشح انسولین، احتمالاً به دلایل تداخل عمل مستقیم این هورمون ها با گیرنده های سیتوزولی آنها در سلول های بتای لوزالمعده می باشد. وجود گیرنده های اختصاصی استروژن و پروژسترون در سلول های لوزالمعده (۴۲، ۱۶) و اثرات هیپرتروفیک این هورمون ها بر سلول های بتا (۱۴) مؤید تأثیر مستقیم هورمون های استروژن و پروژسترون بر سلول های بتای لوزالمعده است. پروژسترون از طریق افزایش سلول های بتا قادر به تأثیر بر هومئوستازی گلوکز نیز می باشد (۵) و بخشی از اثر استروژن و پروژسترون بر حساسیت به انسولین حاصل از اثر آنها بر متابولیسم گلوکز است. گرچه مطابق نتایج این پژوهش، استرادیول سبب افزایش غلظت گلوکز شده اما پروژسترون تأثیر معنی داری بر میزان گلوکز بر جای نمی گذارد. تحقیقات پیشین نشان می دهند که تجویز منفرد یا توأم استروژن و پروژسترون می تواند باعث توقف گلوکز نوژنز در موش های ماده شود (۲۷).

جایگزینی پروژسترون در موش های تخمدان برداری شده دو طرفه نیز سبب کاهش جذب گلوکز به بافت چربی قهوه ای می گردد (۳۳). همچنین ذخیره های گلیکوژن در موش های دریافت کننده استروژن و پروژسترون دچار افزایش می شود (۲۱). علاوه بر این تخمدان برداری نیز بر هومئوستازی گلوکز مؤثر می باشد (۳۱).

پروژسترون + وراپامیل و پروژسترون + دیازوکساید دارای اختلاف معنی داری نبود. با توجه به اینکه تجویز وراپامیل به تنهایی کاهنده حساسیت به انسولین بود، اما تجویز پروژسترون + وراپامیل سبب افزایش حساسیت به انسولین گردید، این امر نشانگر آن بود که پروژسترون با عملکرد وراپامیل بر سلول بتای لوزالمعده مقابله نموده است. با توجه به اینکه وراپامیل با اتصال به گیرنده خود در سطح سلول بتای لوزالمعده باعث مسدود شدن کانال های پتاسیم حساس به ATP و متعاقباً باز شدن کانال های کلسیمی حساس به ولتاژ شده و در نهایت سبب افزایش ترشح انسولین و کاهش حساسیت به انسولین می گردد، بنابراین می توان گفت پروژسترون در مقابله با وراپامیل احتمالاً با جلوگیری از مسدود شدن کانال های پتاسیم حساس به ATP و یا مهار کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ و یا حداقل تداخل با گیرنده های وراپامیل بر ترشح انسولین و در نهایت بر حساسیت به انسولین اثر می گذارد (تصویر شماره ۱).

علاوه بر این میزان انسولین و حساسیت به انسولین ما بین گروه های ماده جراحی نشده دریافت کننده دیازوکساید و دیازوکساید + پروژسترون دارای اختلاف معنی داری نبود. از آنجا که طبق نتایج این تحقیق دیازوکساید عامل افزایش حساسیت به انسولین بوده ولی تجویز همزمان پروژسترون با دیازوکساید سبب افزایش بیشتر حساسیت به انسولین نسبت به حالت تجویز منفرد دیازوکساید نشده است، بنابراین، این امر نشانگر آن است که احتمالاً پروژسترون بر عملکرد دیازوکساید بر سلول بتای لوزالمعده اثر معنی داری ندارد.

نتیجه گیری:

در جمع بندی کلی، یافته های پژوهش حاضر نشان می دهند که تستوسترون دارای اثر کاهشی بر میزان حساسیت به انسولین در موش های نر می باشد، هر چند در

تصویر شماره ۱: مسدود شدن کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای سلول های بتا توسط وراپامیل، موجب دیپلاریزاسیون و متعاقباً باز شدن کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ (VDCC) و ورود کلسیم می شود که این امر به نوبه خود باعث افزایش غلظت کلسیم و آزاد سازی و انسولین می شود. پروژسترون قادر است اثر وراپامیل بر آزاد سازی انسولین را احتمالاً از سه طریق مهار نماید: ۱) تأثیر مهاری برگیرنده وراپامیل ۲) جلوگیری از مسدود شدن کانال های پتاسیم حساس به ATP و ۳) مهار کانال های کلسیمی حساس به ولتاژ. علامت (-) نشان دهنده اثر مهاری بوده و علامت × نشان دهنده مسدود شدن کانال حساس به ATP می باشد.

(د) اثرات پروژسترون بر کانال های پتاسیم حساس به ATP در موش های ماده:

در موش های ماده، اثرات احتمالی پروژسترون بر کانال های پتاسیم حساس به ATP از طریق تجویز توأم پروژسترون (۲۰ mg/kg/day) با دیازوکساید (۳۰ mg/kg/day) یا وراپامیل (۱۰۰ mg/kg/day) مورد بررسی قرار گرفت. تجویز توأم پروژسترون با دیازوکساید یا وراپامیل موجب کاهش میزان انسولین سرم و افزایش حساسیت به انسولین گردید. از طرفی، حساسیت به انسولین ما بین گروه های ماده جراحی نشده دریافت کننده

مهارت بر کانال های کلسیمی حساس به ولتاژ سبب کاهش میزان انسولین سرم و افزایش حساسیت به انسولین می گردد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از کلیه عزیزانی که در انجام این طرح ما را یاری نمودند قدردانی می گردد.

این راستا، احتمالاً بر کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای بتای لوزالمعده، تأثیر ندارد. همچنین، مطابق یافته های این تحقیق، استرادیول دارای اثر کاهشی و پروژسترون دارای اثر افزایشی بر میزان حساسیت به انسولین در موش های ماده می باشد. پروژسترون احتمالاً از طریق جلوگیری از مسدود شدن کانال های پتاسیم حساس به ATP موجود در غشای بتای لوزالمعده و یا اثر

References:

1. Achard C.; Thiers J. Le virilisme pileaire et son association a L'insuffisance glycolytique (diabetes des femmes a barbe). Bull Acad Natl Med, (Paris). 86, 1921.
2. Bergamini E. Different mechanisms in testosterone action on glycogen metabolism in rat peripheral action on glycogen metabolism in rat peripheral and skeletal muscle. Endocrinology, 96: 77-84, 1975.
3. Beck P. Contraceptive Steroids: modification of carbohydrate and lipid metabolism. Metabolism, 22: 841, 841-55, 1973.
4. Buffington CK.; Givens JR.; Kitabchi AE. Opposing effects of androgens on insulin resistance. Clin Res, 36: 41A, 1988.
5. Chang RJ.; Nakamura RM.; Judd HL.; Kaplan AS. Insulin resistance in no-nobese patients with polycystic ovarian disease. J Clin Endocrinol Metab, 57: 356-9, 1983.
6. Chasan Taber L.; Willett WC.; Stampfer MJ.; Hunter DJ.; et al. A prospective study of oral contraceptives and NIDDM among U.S. Women Diabetes Care, 20(3): 330-5, 1997.
7. Collison M.; Campbell IW.; Salt IP.; Dominiczak AF.; et al. Sex hormones induce insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes by reducing cellular content of IRS proteins. Diabetologia, 43(11): 1374-80, 2000.
8. Costrini NV.; Kalkhoff RK. Relative effects of pregnancy, estradiol and progesterone on plasma insulin and pancreatic islet insulin secretion. J Clin Invest, 50: 992-9, 1971.
9. Dalponte DB.; Fagt DL.; Jacob S.; Henriksen DJ. Interactions of captopril and verapamil on glucose tolerance and insulin action in animal model of insulin resistance. Metabolism, 47(8): 982-7, 1998.
10. Diaz-Sanchez V.; Morimoto S.; Morales A.; Robles Diaz G.; et al. Androgen receptor in the rat pancreas: genetic expression and steroid regulation. Pancreas, 11: 241-5, 1995.
11. Dunaif A.; Segal KR.; Futterweit W.; Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance independent of obesity in the polycystic ovary syndrome. Diabetes, 38: 1165-74, 1989.
12. Etchegoyen GS.; Robelli MI. Effect of 2-hydroxyoestradiol on insulin secretin in normal rat pancreatic islets. Diabetes and Metabolism, 24: 428-33, 1998.

13. Evans DJR.; Kissebah AH. Relationship between skeletal muscle insulin resistance, insulin mediated glucose disposal and insulin binding: effects of obesity and body fat topography. *J Clin Invest*, 74: 1515-25, 1984.
14. Foster RH. Ovarian hormon -induced beta-cell hypertrophy contributes to the homeostatic of B-cell mass in OLETE female rat, a model of type II diabetes. *Diabetologia*, 41: 799-805, 1998.
15. Foster RH.; Balfour JA. The effects of estradiol and dyhydrogestrone on insulin resistance in postmenopausal women. *Drugs Agins*, 11(4): 309-32, 1997.
16. Green JC.; Howell SI.; Elseif S.; Perrin D. Binding of 3H progesterone by isolated rat islets of Langerhans. *Diabetologia*, 15: 346-55, 1978.
17. Holmang A.; Bjorntorp P. The effects of cortisol on insulin sensitivity in muscle. *Acta Physiol Scand*, 144: 425-31, 1991.
18. Holmang A.; Larsson BM.; Brzezinska Z.; Bjorntorp P. Efects of short-term testosterone exposure on insulin sensitivity of muscles in female rats. *Am J Physiol*, 262: E851-E5, 1992.
19. Houssay BA.; Foglia VG.; Rodriguez RR. Production or prevention of some types of experimental diabetes by oestrogens or corticosteroids. *Acta Endocrinol*, 17: 14-164, 1954.
20. Isomoto S.; Kondso C.; Yamada M.; Matsumoto S.; et al. A novel sulfonylurease receptor forms with BIR (Kir 6.2) a smooth muscle type ATP- sensitive K⁺ channel. *J Biol Chem*, 271: 24321-4, 1996.
21. Kasdorf G.; Kalkhoff RK. Prospective studies of insulin sensitivity in normal women receiving oral contraceptive agents. *J Clin Endocrinol Metab*, 66: 846-52, 1988.
22. Kerr JE.; Beck SG.; Handa RJ. Androgens modulate glucocorticoids receptor mRNA, but not mineralocorticoid receptor mRNA levels in the rat hippocampus. *J Neuroendocrinol*, 8: 439-47, 1996.
23. Landon J., Wynn V.; Samols E. The effect of anabolic steroids on blood sugar and plasma insulin levels in men. *Metabolism*, 12: 924-8, 1963.
24. Lefaucheur L.; Lepeuch C.; Barention B.; Vigneron P. Charecterization of insulin binding to slices of slow and fast twitch skeletal muscles in the rabbit. *Horm Metab Res*, 18: 725-9, 1986.
25. Lindheim SR.; Buchanan TA. Comparison of estimates of insulin sensitivity in pre- and post- menopausal women using the insulin tolerance test and the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *J Soc Gynecol Investing*, 1(2): 150-4, 1994.
26. Liu D.; Bachmann A. An investigation of the relationship between estrogen, estrogen metabolites and blood cholesterol levels in ovariectomised rat. *JPET*, 286(1): 56-568, 1998.
27. Matute ML.; Khalkhoff RK. Sex steroid influence on hepatic gluconeogenesis and glycogen formation. *Endocrinology*, 92: 762-8, 1973.
28. McCarroll AM.; Buchanan KD. Physiological factors influencing insulin clearance by the isolated perfused rat liver. *Diabetologia*, 9: 174-7, 1973.
29. Moritz W.; Leech CA.; Ferrer J.; Habener JF. Regulated expression of ATP-sensitive potassium channel subunits in pancreatic B-cells. *Endocrinology*, 142: 1.ML. Abst, 2001.

30. Nagata C.; Shimizu H.; Takami R.; Hayashi M.; et al. Relations of insulin resistance and serum concentrations of estradiol and sex hormone- binding globulin to potential breast cancer risk factors. Jpn. J Cancer Res, 91(9): 948-53, 2000.
31. Nalan C.; Proietto J. The effects of oophorectomy and female sex steroids on glucose kinetics in the rat. Diabetes Research and Clinical Practice, 30: 181-8, 1995.
32. Neilsen JH. Direct effects of gonadal and contraceptive steroids on insulin release from mouse pancreatic islets on organ culture. Acta Endocrinol, (Copenh). 105: 245, 1988.
33. Nicholls DG.; Locke RM. Thermogenic mechanism in brown fat. Physiol Reviews, 64: 1-64, 1984.
34. Polderman KH.; Gooren LJG.; Asscheman H.; Bakker A.; et al. Induction of insulin resistance by androgens and estrogens. J Clin Endocrinol Metab, 79(1): 265-71, 1994.
35. Quast U.; Cook NS. *In vitro* and *in vivo* comparison of two K⁺ channel openers, diazoxide and cromakalim and their inhibition by gli-benclamide. J Pharmacol EXP Ther, 250(1): 261-71, 1989.
36. Randle PJ.; Newsholme EA.; Gerald PB. Regulation of glucose uptake by muscle: Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan-diabetes and starvation on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscle. Biochem J, 93: 652-65, 1964.
37. Sechi LA.; Melis A.; Tedd A. Insulin hypersecretion: a distinctive feature between essential and secondary hypertension metabolism. 41(11): 1261-6, 1992.
38. Selman PJ.; Mol JA.; Rutteman GR.; VanGarderen E.; et al. Effects of progestin administration on hypothalamic-pituitary-adrenal axis and glucose homeostasis in dogs. J Reprod Fertil Suppl, 513-54, 1997.
39. Shen ZP.; Nishimura M.; Tsuura Y.; Fujimuta S.; et al. Distinct effect of diazoxide on insulin secretion stimulated by PKA and PKC in rat pancreatic islets. Diabetes Research and Clinical Practice, 53: 9-16, 2001.
40. Shoupe D.; Lobo RA. The influence of androgens on insulin resistance. Fertil Steril, 41: 385-8, 1984.
41. Sumiko M.; Cisinta FM.; Guillermo RN. Nestor MP.; et al. Testosterone effect on insulin content, messenger ribonucleic acid levels, promoter activity and secretion in the rat. Endocrinology, 142(4): 1442-7, 2001.
42. Tesone N.; Chazenbalk GD.; Ballejos G.; Charreau EM. Estrogen receptors in rat pancreatic islets. J Steroid Biochem, 11: 1309-14, 1979.
43. Watson KA. Laboratory of molecular biophysics. 2001.
44. Waynforth HB. Experimental and surgical technique in the rat. Academic Press London, 160-3, 1988.